Nº 33. **M. Wyss-Huber und M. Lüscher,** Bern. — Über die hormonale Beeinflussbarkeit der Proteinsynthese in vitro im Fettkörper von *Leucophaea maderae* (Insecta).[1] (Mit einer Textabbildung.)

Aus der Abteilung für Zoophysiologie, Zoologisches Institut der Universität Bern.

Nachdem gezeigt werden konnte, dass ein Hormon der Corpora cardiaca von *Leucophaea* den Sauerstoffverbrauch von Fettkörper in vitro stark erhöht (Lüscher und Leuthold 1965) und dass diese Stimulierung während der Eireifungsphase besonders stark ist (Lüscher 1965), stellte sich die Frage, ob sie durch die Synthese der für die Dottereinlagerung notwendigen Proteine bedingt ist. Wir haben deshalb den Einbau einer radioaktiv markierten Aminosäure (Alanin-1-C^{14}) in die Proteine des Fettkörpers in vitro unter dem Einfluss von Corpora cardiaca untersucht.

Die verwendeten Weibchen von *Leucophaea* stammten aus einer Zucht des Zoologischen Instituts Bern und befanden sich in der 2. Eireifungs- oder Trächtigkeitsphase. Das Stadium der Versuchstiere im Sexualzyklus ergab sich aus der Länge der Oocyten im Ovar bzw. aus den Antennenlängen der Embryonen im Uterus.

Die Fettkörper mehrerer Weibchen wurden in eiskalter Ringerlösung herauspräpariert und gleichmässig auf die Warburggefässe (Inhalt 5 ml) verteilt, so dass jedes 100—150 mg Gewebe enthielt. Ein Gefäss diente als Kontrolle, den andern wurden 1—2 Corpora cardiaca zugegeben. Die Inkubationslösung setzte sich zusammen aus 1 ml Ringerlösung (9,5 g NaCl, 0,2 g KCl, 0,4 g $CaCl_2.6H_2O$, Aq. dest. ad 1000 ml), gepuffert mit Tris (0,005 M, pH 7,5) und 2 μc DL-Alanin-l-C^{14} (Radiochemical Centre, Amersham, England; spezifische Aktivität 21,7 mc/mMol) in 20 μl Ringerlösung. Vor der Inkubation wurden die Gefässe mit reinem Sauerstoff durchspült. Wir bestimmten den Sauerstoffverbrauch nach der direkten Methode von Warburg. Die Manometer wurden während 4 Stunden alle 30 Minuten abgelesen.

Nach der Inkubation wurden die Gefässe in Eis gekühlt, der Fettkörper in eiskaltem Ringer abgespült und das Frischgewicht des Gewebes bestimmt. Anschliessend wurde der Fettkörper in 0,5 ml eiskalter 10%

[1] Durchgeführt mit Hilfe eines Forschungskredits des Schweiz. Nationalfonds.

Trichloressigsäure (TCA), die 0,1 M DL-Alanin-C^{12} enthielt, homogenisiert. Nach 1 Stunde wurde zentrifugiert, der Niederschlag mit 0,5 ml 10% TCA-C^{12} Alanin und 5 mal mit je 0,5 ml 5% TCA gewaschen. Die Lipoide wurden 2mal mit je 0,5 ml Äther-Alkohol (1:1) bei 50° C während 10 Minuten extrahiert, der Niederschlag mit Äther gewaschen. 3malige Extraktion des Niederschlages mit 0,5 ml 5% TCA bei 90° C während je 15 Minuten entfernte RNS. Nochmalige Inkubation in Äther-Alkohol (3mal je 10 Minuten, 50° C) und 2maliges Waschen mit Äther eliminierten letzte Lipoidreste sowie Wasser und TCA. Pro Proteinprobe wurden in je 2 Standard-Szintillatorgefässe 5—10 mg des bei 50° C während 5 Stunden getrockneten Proteines eingewogen und in 1 ml Hyamine 10-X (Packard) durch Erwärmen auf 52° C während 12 Stunden gelöst. Nach Zugabe von 8 ml Szintillatorflüssigkeit (3 g PPO (Packard), 100 mg Dimethyl POPOP (Packard) in 1000 ml Toluol) wurden die Aktivitäten der Proteinproben in einem Tricarb Flüssigkeits-Szintillationsspektrometer 314 EX von Packard gemessen. Der Löscheffekt konnte durch Zugabe eines internen Standards (0,2 ml C^{14}-Toluol, $4{,}2 \times 10^4$ cpm/ml) korrigiert werden.

Es wurden 2 Gruppen von Versuchen durchgeführt: einerseits inkubierten wir Fettkörper von Weibchen in der Eireifungsphase *(FK5)*, die 4-11 Tage vorher abgelegt hatten, zusammen mit eigenen Corpora cardiaca. Andererseits untersuchten wir den Einfluss von Corpora cardiaca aus Weibchen im Alter von 5 Tagen nach der Ablage auf den Fettkörper trächtiger Tiere im Alter von 40 Tagen nach der letzten Ablage *(FK 40)*. Es war anzunehmen, dass die Corpora cardiaca in beiden Versuchsgruppen gleich aktiv waren.

Für die statistische Auswertung der Resultate wurden Sauerstoffverbrauch und Proteinsynthese der Kontrollen gleich 100% gesetzt.

Ein erster Unterschied zwischen *FK 5* und *FK 40* zeigt sich im Sauerstoffverbrauch der Kontrollen: 621 $\pm$ 34 µl/g/h für genau 5 tägigen Fettkörper und 326 ± 12 µl/g/h für *FK 40*; die Differenz ist mit $P < 0{,}000\,001$ gesichert. In beiden Fällen steigt der Sauerstoffverbrauch unter Einfluss der Corpora cardiaca um annähernd denselben Prozentsatz: bei *FK 5* durchschnittlich um 33,7%, bei *FK 40* um 39,5%. Für beide Gruppen ist diese Stimulierung des Sauerstoffverbrauches mit $P < 0{,}001$ gesichert. Ein Unterschied zwischen den Gruppen liess sich statistisch nicht nachweisen. Die Proteinsynthese erfolgt bei den Kontrollen von *FK 5* rascher als bei denjenigen von *FK 40*.

Im Gegensatz zur Beeinflussung des O_2-Verbrauches bei *FK 5* und *FK 40* ist die Wirkung der Corpora cardiaca auf die Proteinsynthese trotz grosser Streuung der Resultate deutlich verschieden: im Vergleich zur Kontrolle finden wir bei *FK 5* im Mittel 122%, bei *FK 40* 84,9% ($P < 0{,}005$) markierte Proteine bei Versuchsende.

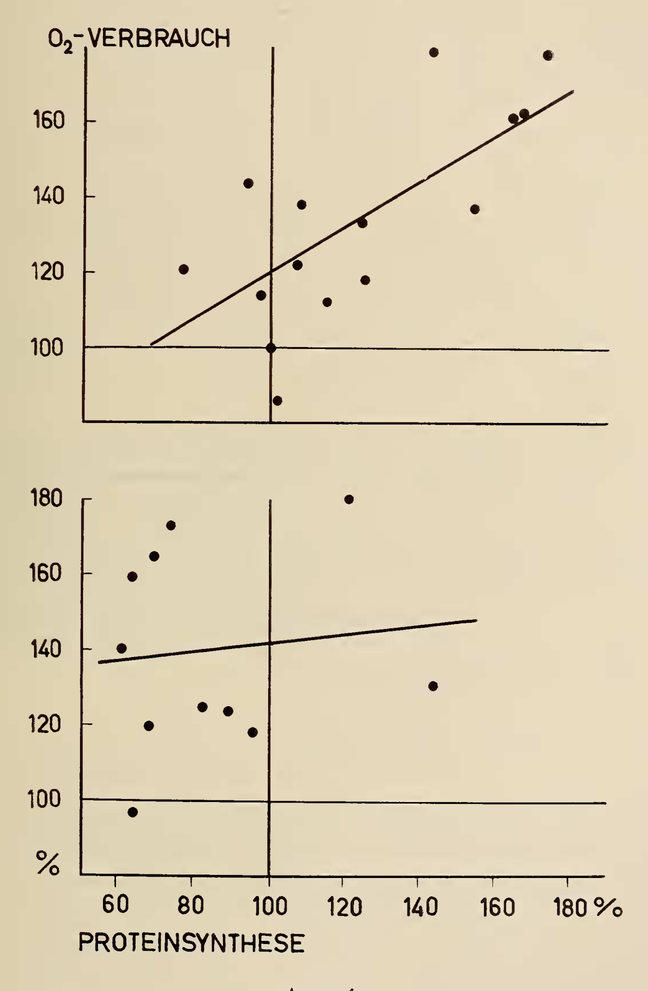


Abb. 1.

Die Beziehung zwischen dem Sauerstoffverbrauch und der Proteinsynthese unter dem Einfluss von Corpora cardiaca, bezogen auf die Kontrollen (100%). Oben Fettkörper während der Eireifung, 4—11 Tage nach Ablage *(FK 5)*. Unten Fettkörper während der Trächtigkeit, 40 Tage nach Ablage *(FK 40)*. Ordinate: O_2-Verbrauch; Abszisse: Proteinsynthese.

Eine Stimulierung der Proteinsynthese lässt sich für *FK 5* mit $P < 0{,}02$ sichern; der Wert von 84,9% für *FK 40* entspricht dagegen nicht einer statistisch nachweisbaren Hemmung ($P < 0{,}1$).

Wie die Abbildung zeigt, besteht für *FK 5* eine gesicherte Korrelation ($P < 0{,}01$) zwischen der Zunahme des O_2-Verbrauches bei Gegenwart von Corpora cardiaca und der gleichzeitigen Stimulierung der Proteinsynthese. Für *FK 40* besteht keine derartige Korrelation ($P = 0{,}8$).

Unsere Ergebnisse zeigen, dass ein Hormon der Corpora cardiaca, bei dem es sich wahrscheinlich um ein gespeichertes Neurosekret handelt, die Proteinsynthese im Fettkörper von Tieren in der Eireifungsphase stimuliert. Wir können damit die kürzlich publizierten Feststellungen von Hill (1965) bestätigen. Hill konnte bei *Schistocerca*-Weibchen in vivo nachweisen, dass die Proteinsynthese im Fettkörper unter neuroendokriner Kontrolle steht und dass sie nach Kauterisierung der neurosekretorischen Zellen gehemmt, nach Implantation von Corpora cardiaca aber stimuliert wird.

Aus unsern Resultaten ergibt sich ferner eine phasenspezifische Reaktion des Fettkörpers. Nur der Fettkörper des Eireifungsweibchens reagiert auf das Hormon mit erhöhter Proteinsynthese und erhöhter Atmung. Im Fettkörper trächtiger Weibchen scheint das gleiche Hormon die Proteinsynthese eher zu hemmen, obschon gleichzeitig der O_2-Verbrauch erhöht wird. Die Stimulierung des Sauerstoffverbrauchs steht also nicht zu jeder Zeit mit der Proteinsynthese in Zusammenhang.

Summary

Adult female *Leucophaea* fat body was incubated in the Warburg apparatus in the presence of C^{14}-alanine with and without corpora cardiaca. Corpora cardiaca taken from animals in the stage of oocyte maturation stimulated oxygen consumption and synthesis of proteins in fat body of insects taken during the same phase of the sexual cycle. Incubation of fat body of pregnant females with corpora cardiaca of oocyte maturation-animals resulted in increased oxygen consumption, but had no effect on protein synthesis. The fat body responds phase-specifically to the hormone of the corpora cardiaca, which is probably stored neurosecretory material.

Wir danken Herrn Prof. Dr. H. Aebi und Herrn Dr. M. H. Bickel vom medizinisch-chemischen Institut der Universität Bern für die Ausführung der Radioaktivitäts-Messungen. Fräulein Lotte Frauchiger sind wir für ihre wertvolle Mitarbeit bei der Durchführung der Versuche dankbar.

LITERATUR

Hill, L. 1965. *The incorporation of C^{14}-glycine into the proteins of the fat-body of the desert locust during ovarian development.* J. Insect Physiol. 11: 1605-1615.

Lüscher, M. und R. Leuthold. 1965. *Über die hormonale Beeinflussung des respiratorischen Stoffwechsels bei der Schabe Leucophaea maderae (F).* Rev. suisse Zool. 12: 618-623.

— 1965. *The influence of hormones on tissue respiration in the insect, Leucophaea maderae.* Gen. and Comp. Endocrinol. 5: 699-700.

N° 34. **François Béguin.** — Un intestin externe: la cuticule des cestodes et les structures qui lui sont associées [1]. (Avec 2 figures dans le texte)

Institut d'Histologie et d'Embryologie, Ecole de Médecine, Genève, (Dir.: Prof. Dr. Ch. Rouiller).

Institut de Zoologie, Université de Neuchâtel (Dir.: Prof Dr. Jean G. Baer).

Les Cestodes sont dépourvus de tube disgestif. Toutes les substances nécessaires à leur nutrition traversent donc leur cuticule.

Quelle est la structure de cette cuticule ? Les anciens auteurs la considéraient comme acellulaire. Dès l'introduction des coupes ultrafines, permettant l'application de la microscopie électronique aux domaines de la cytologie et de l'histologie, certains plathelminthologistes (Kent, 1957, Threadgold, 1962, 1965, Rothman, 1963) l'ont étudiée au moyen de cette technique, et ont découvert qu'il s'agissait, en réalité, d'une structure cellulaire contenant des mitochondries notamment. A partir de résultats obtenus chez

[1] Travail ayant bénéficié de subsides du Fonds National Suisse pour la Recherche scientifique.